

ДАНИЛОВА НАТАЛЬЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ СОСТАВА
МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА У ПАЦИЕНТОВ С
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА**

3.1.18 – внутренние болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор Абдулхаков Рустам Аббасович

Официальные оппоненты:

Белоусова Елена Александровна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой гастроэнтерологии факультета усовершенствования врачей, руководитель отделения гастроэнтерологии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского»

Авалуева Елена Борисовна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и диетологии имени С.М. Рысса Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы "Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы"

Защита состоится 15 ноября 2022 года в 11:00 на заседании объединенного диссертационного совета 99.2.058.02 при ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России и ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (420012, Казань, ул. Бутлерова, д. 49).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке (420012, Казань, ул. Бутлерова, д 49Б) и на сайте (<http://www.kazangmu.ru>) ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент
Лапшина Светлана Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) – язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК) – иммунопатологические, многофакторные заболевания, характеризующиеся хроническим прогрессирующим, рецидивирующим воспалением желудочно-кишечного тракта, требующим пожизненного фармакологического лечения или хирургического вмешательства (Корниенко Е.А., 2014; Somineni H.K. et al., 2019; Князев О.В. и др., 2021). На сегодняшний день в мире ВЗК страдает около 5 миллионов человек, в Европе – 2,2 миллиона человек, в Северной Америке 1,5 миллиона человек (Loddo I. et al., 2015; Somineni H.K. et al., 2019; Jairath V. et al., 2019). По данным региональных регистров, распространенность ВЗК составляет в Московской области 58 случаев на 100 000 населения, в Новосибирской области – 49 на 100 000, в Республике Татарстан – 40 на 100 000, а в регионах, где нет единого регистра по ВЗК, от 5 до 12 случаев на 100 000 населения (Князев О.В. и др., 2020). В России, по данным исследования ESCAPE, дебют ЯК приходится преимущественно на возраст 21–40 лет, при БК начало заболевания отмечено в трех возрастных группах: <20, 21–30 и 31–40 лет (Белоусова Е.А. и др., 2018).

Продолжающийся в XXI веке рост заболеваемости ВЗК во всем мире связывают, в том числе, с изменением образа жизни: улучшением гигиенических условий, вакцинацией, изменением типа питания и т.д. – факторами, приводящими к модификации состава микробиоты кишечника. Наряду с другими причинами (генетические факторы, состояние иммунной системы, стресс), нарушение состава кишечной микробиоты и снижение разнообразия ее представителей обсуждаются в качестве возможной причины активации иммунного воспаления при ВЗК (Авалуева Е.Б. и др., 2013, Vrakas S. et al., 2017; Ситкин С.И. и др., 2017; Rorov J. et al., 2021). Вместе с тем, в литературе существуют достаточно противоречивые данные относительно характерных изменений состава микробиоты кишечника и уровня короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) у пациентов с ВЗК;

практически не освещено влияние изменений состава кишечной микробиоты на формирование клинических симптомов ЯК и БК.

Цель исследования

Оценить таксономические и функциональные характеристики микробиоты кишечника и их связь с клинико-лабораторными параметрами у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника для определения роли ее изменений в течении заболеваний.

Задачи исследования

1. Изучить таксономический состав микробиоты кишечника у пациентов с язвенным колитом и болезнью Крона.
2. Оценить функциональные характеристики микробиоты кишечника у пациентов с язвенным колитом и болезнью Крона.
3. Проанализировать взаимосвязь клинических симптомов, лабораторных показателей активности воспаления и характера течения язвенного колита и болезни Крона с таксономическим составом микробиоты кишечника.
4. Изучить частоту синдрома избыточного бактериального роста у пациентов с язвенным колитом и болезнью Крона и динамику клинических симптомов на фоне лечения рифаксимином-α.

Научная новизна

Впервые на основании анализа результатов полногеномного секвенирования, содержания и спектра КЖК и водородного дыхательного теста (ВДТ) определены таксономические и функциональные маркеры дисбиоза кишечника у пациентов с ВЗК. В результате исследования выявлено увеличение относительной представленности «провоспалительных» бактерий филума *Proteobacteria* на фоне снижения относительной представленности «противовоспалительных» бактерий филума *Firmicutes* и архей филума *Euryarchaeota*; снижение индекса альфа-разнообразия. У пациентов с ЯК и БК наблюдается снижение относительной представленности бутират-продуцирующих бактерий (БПБ) и водород-утилизирующих микроорганизмов, а также уменьшение абсолютного содержания уксусной и масляной кислот.

Впервые охарактеризована взаимосвязь клинических и лабораторных показателей с составом микробиоты кишечника. У пациентов с ЯК с увеличением индекса Мейо увеличивается относительная представленность условно-патогенных бактерий (УПБ) *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), *Streptococcus infantis* (*S. infantis*). С увеличением частоты стула, индекса Мейо, протяженности поражения (от проктита до тотального колита) при ЯК уменьшается относительная представленность бактерий вида *Akkermansia muciniphila* (*A. muciniphila*). У пациентов с БК выявлена более высокая относительная представленность бактерий вида *Escherichia coli* (*E. coli*) в стадии обострения по сравнению с ремиссией заболевания и контрольной группой. Впервые продемонстрировано, что частота рецидивов при БК отрицательно коррелирует с относительной представленностью БПБ вида *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*) и положительно – с относительной представленностью *E. coli*.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. На основании проведенного комплексного анализа микробиоты кишечника определены маркеры дисбиоза у пациентов с ВЗК.
2. Выявленные изменения состава кишечной микробиоты в виде снижения уровня КЖК, представленности отдельных функциональных групп и видов бактерий могут быть использованы при разработке новых пробиотических препаратов, а также формируют основу для применения препаратов-метабиотиков, в частности, содержащих масляную кислоту, в лечении пациентов с ВЗК.
3. Полученные данные по изменению состава микробиоты кишечника у пациентов с ВЗК могут лечь в основу создания диагностической панели для выявления нарушений состава кишечной микробиоты и разработки в дальнейшем подходов к ее персонализированной коррекции.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с ЯК и БК наблюдаются статистически значимые изменения таксономического состава и функциональных характеристик микробиоты кишечника.

2. Для клинических характеристик ЯК (большая протяженность поражения, значение индекса Мейо, частота стула) характерно снижение относительной представленности бактерий вида *Akkermansia muciniphila*. Тяжесть атаки ЯК характеризуется увеличением относительной представленности условно-патогенных бактерий *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus infantis*.

3. Клинические характеристики БК (стадия обострения и течение с частыми рецидивами) характеризуются повышением относительной представленности бактерий вида *Escherichia coli* и снижением относительной представленности бутират-продуцирующих бактерий вида *Faecalibacterium prausnitzii*.

4. Высокая распространенность синдрома избыточного бактериального роста у пациентов с ЯК и БК определяет необходимость оценки избыточного роста бактерий с помощью водородного дыхательного теста и его лечения для уменьшения выраженности клинических симптомов.

Личное участие

Автором самостоятельно проведен анализ литературы, определены цель и задачи, разработан дизайн, определены основные критерии включения и невключения в исследование пациентов и здоровых добровольцев. Клинические наблюдения и специальные методы исследования выполнены при непосредственном участии диссертанта. Автором самостоятельно проведены анализ полученных результатов, статистическая обработка, интерпретация полученных данных; сформулированы выводы, практические рекомендации, положения, выносимые на защиту.

Внедрение полученных результатов

Полученные результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, кафедры внутренних болезней Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», в практическую работу терапевтического отделения Медико-санитарной части ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», гастроэнтерологического отделения ГАУЗ «РКБ МЗ РТ».

Апробация и степень достоверности результатов исследования

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на VII Латвийском гастроэнтерологическом конгрессе с международным участием (Рига, 2015); XXI Объединённой Российской гастроэнтерологической неделе (Москва, 2015); 12-м конгрессе Европейской организации по изучению болезни Крона и язвенного колита (Барселона, 2017); XXIII Объединённой Российской гастроэнтерологической неделе (Москва, 2017); XXX международном семинаре «Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer» (Бордо, 2017); международном симпозиуме «ВЗК 2017: терапевтические и биологические барьеры» (Берлин, 2017); 13-м конгрессе Европейской организации по изучению болезни Крона и язвенного колита (Вена, 2018); международном симпозиуме «Персонализированная терапия ВЗК: взгляд в будущее» (Милан, 2018); 26-й Объединённой Европейской гастроэнтерологической неделе (Вена, 2018, премия за лучшую научно-исследовательскую работу среди молодых ученых «National Scholar Award»); 45-й научной сессии Центрального научно-исследовательского института гастроэнтерологии «Вопросы онкологии в практике гастроэнтеролога» (Москва, 2019, работа удостоена первой премии среди молодых ученых); международном симпозиуме «ВЗК: от диагноза к терапии» (Санкт-Петербург, 2019); 27-й Объединённой Европейской гастроэнтерологической неделе (Барселона, 2019).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, из них 4 статьи опубликованы в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, в том числе 3 статьи – в журналах, входящих в международную базу цитирования Scopus; кроме того, 2 статьи опубликованы в англоязычных изданиях, входящих в международную базу цитирования Scopus.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 166 страницах машинописного текста, иллюстрирована 38 рисунками и 25 таблицами; состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, приложения. Список литературы содержит 194 литературных источника.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы

Работа проведена в период с 2014 по 2019 гг. на кафедре госпитальной терапии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России. Набор пациентов проведен на базе ГАУЗ «РКБ МЗ РТ», лабораторная часть работы была выполнена в Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России и OpenLab «Генные и клеточные технологии» Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет».

В соответствии с критериями включения в исследование было включено 138 пациентов с ВЗК, в том числе 108 пациентов с ЯК и 30 с БК: 65 мужчин (47,1%) и 73 женщины (52,9%) в возрасте от 18 до 75 лет включительно (средний возраст $41,5 \pm 12,5$ лет). Среди пациентов с ЯК 93 (86,1%) человека были включены в исследование в стадии обострения заболевания, 15 (13,9%) пациентов – в стадии ремиссии. По протяженности поражения пациенты с ЯК распределились следующим образом: тотальный колит – 47 (43,5%), левосторонний колит – 49

(45,4%), проктит – 12 (11,1%) пациентов. В группе пациентов с БК 24 (80%) были в стадии обострения, 6 (20%) – в стадии ремиссии; у 13 (43,3%) пациентов был выявлен илеоколит, у 11 (36,7%) – колит, у 6 (20%) пациентов – илеит.

В качестве контрольной группы при оценке данных метагеномного анализа были использованы результаты секвенирования образцов кала 96 здоровых добровольцев (Tyakht A. et al., 2013), при анализе уровня КЖК – образцы кала 40 здоровых добровольцев, соответствующих критериям включения и невключения для контрольной группы.

Клиническое обследование пациентов с ВЗК было проведено в соответствии с актуальными на момент проведения исследования Российскими клиническими рекомендациями (Ивашкин В.Т. и др., 2013, 2015, 2017 г.). Специальные методы исследования включали полногеномное секвенирование образцов кала, определение КЖК в кале, ВДТ (рисунок 1).

Общая схема этапов проведения исследования

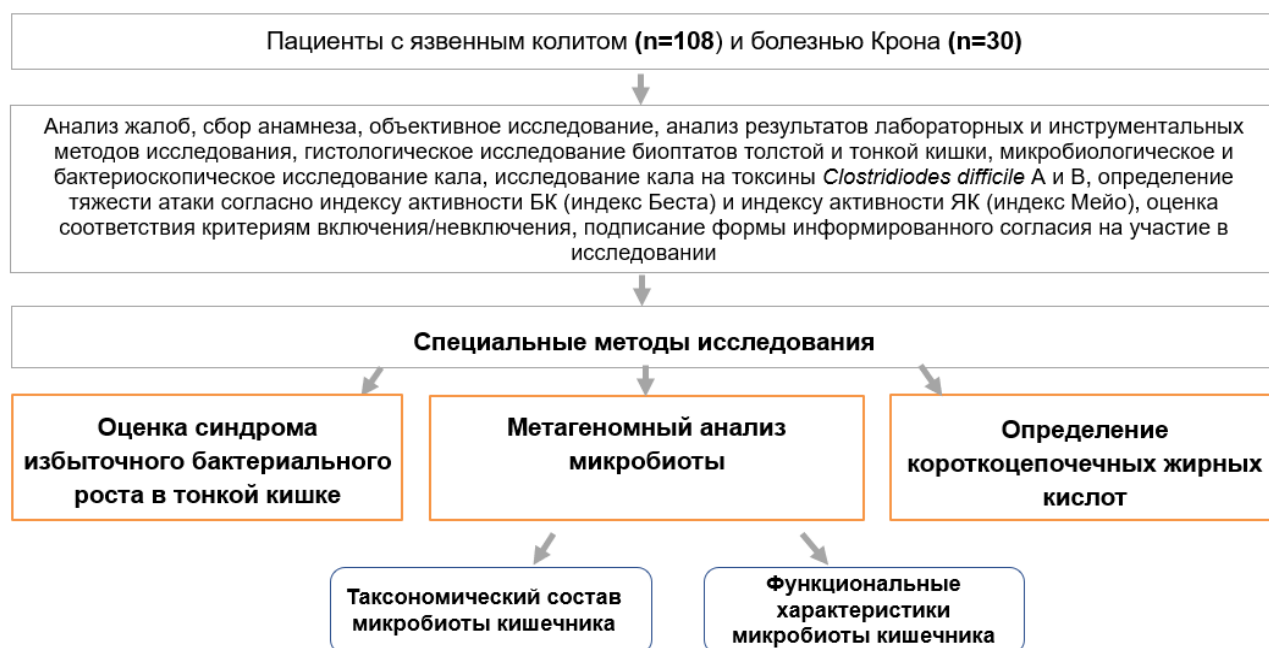


Рисунок 1– Общая схема проведения исследования

Статистическая обработка результатов исследования

Для анализа данных пациентов с ВЗК и здоровых добровольцев количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному

распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка при числе исследуемых менее 50 и критерия Колмогорова-Смирнова при числе исследуемых более 50. Количественные показатели описывали с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), стандартной ошибки среднего (SE), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывали с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3). Категориальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей (%). Сравнение двух независимых групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий выполняли с помощью t-критерия Стьюдента. Сравнение двух независимых групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполняли с помощью U-критерия Манна-Уитни с поправкой на множественное сравнение по методу Бенджамини–Хохберга (уровень значимости $p < 0,05$). Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности проводили с помощью точного критерия Фишера (при значениях ожидаемого явления менее 10), и расчета отношения шансов (ОШ). Сравнение процентных долей при анализе многопольных таблиц сопряженности проводили с помощью критерия Хи-квадрат Пирсона. При сравнении количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, в двух связанных группах, использовали критерий Уилкоксона.

Корреляционный анализ проводили путем расчета коэффициента непараметрической (ранговой) корреляции Спирмена. Статистический анализ проводили с использованием программ: RStudio с использованием языка программирования R, версии 3.1.0, и StatTech v. 2.6.1 (разработчик: ООО "Статтех", Россия).

Результаты собственного исследования и их обсуждение

В образцах кала пациентов с ВЗК были выявлены пять основных филумов бактерий: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*

и один филум архей – *Euryarchaeota*; данные бактерии являются типичными представителями микробиоты кишечника и совпадают с представленными в группе контроля. Два филума бактерий – *Bacteroidetes* и *Firmicutes* – оказались доминирующими у пациентов с ЯК и БК, так же, как и у лиц контрольной группы. Выявлено увеличение относительной представленности бактерий филумов *Proteobacteria* и *Bacteroidetes* у пациентов с ЯК – $(3,84 \pm 6,75)\%$, $(37,94 \pm 25,55)\%$ и филума *Proteobacteria* у пациентов с БК – $(7,49 \pm 9,56)\%$ по сравнению с контрольной группой – $(1,85 \pm 5,33)\%$, $(24,29 \pm 20,54)\%$, $p=0,0012$, $p=0,0013$, $p<0,0001$, соответственно; уменьшение относительной представленности бактерий филума *Firmicutes* у пациентов с ЯК – $(50,82 \pm 21,80)\%$ и БК – $(44,28 \pm 21,66)\%$ по сравнению с контрольной группой – $(65,22 \pm 19,67)\%$, $p=0,00062$, $p=0,000061$, соответственно и уменьшение относительной представленности архей филума *Euryarchaeota* у пациентов с ЯК – $(1,30 \pm 4,20)\%$ и БК – $(0,74 \pm 2,76)\%$ по сравнению с контрольной группой – $(1,65 \pm 3,07)\%$, $p<0,0001$ (рисунок 2).

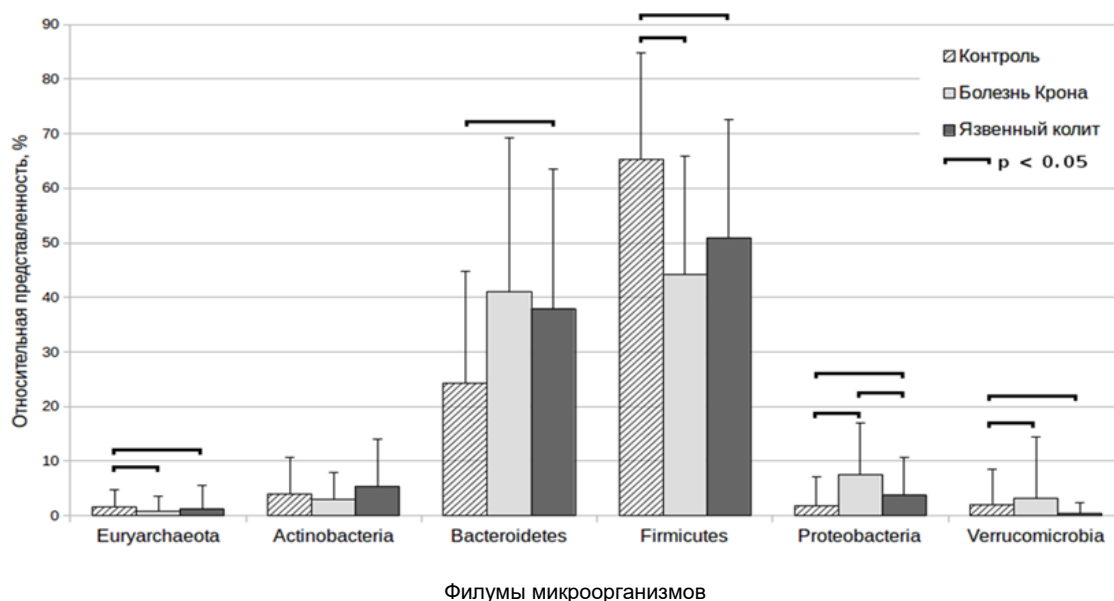


Рисунок 2 – Относительная представленность филумов микроорганизмов в образцах пациентов с ЯК, БК и лиц контрольной группы

Полученные результаты подтверждаются рядом исследований, в которых показано значительное снижение относительной представленности бактерий филума *Firmicutes* и увеличение представленности бактерий филума *Proteobacteria* у пациентов с ВЗК (Frank D.N., 2007; Rigottier-Gois L., 2013; Bernstein C.N. et al., 2017).

Пациенты с ЯК и БК значительно отличались между собой только представленностью бактерий филума *Proteobacteria*: у пациентов с БК она оказалась выше – $(7,49 \pm 9,56)\%$ – по сравнению с группой пациентов с ЯК – $(3,84 \pm 6,75)\%$, $p=0,0045$.

Анализ видового разнообразия у пациентов с ВЗК по сравнению с контрольной группой показал более низкие значения индекса альфа-разнообразия – $2,08 \pm 0,42$ vs $2,31 \pm 0,31$, $p=0,000082$, причем, его снижение наблюдалось как в группе пациентов с БК – $(2,0 \pm 0,43)$, $p=0,0057$ по сравнению с группой контроля), так и у пациентов с ЯК – $(2,1 \pm 0,42)$, $p=0,0016$ по сравнению с группой контроля).

У пациентов с ЯК и в стадии обострения, и в стадии ремиссии по сравнению с контрольной группой была снижена относительная представленность КЖК-продуцирующих родов бактерий: *Ruminococcus* – $(4,4 \pm 7,2)\%$, $(4,2 \pm 8,7)\%$ vs $(8,8 \pm 8,6)\%$, *Roseburia* – $(2,7 \pm 4,4)\%$, $(2,2 \pm 3,5)\%$ vs $(4,1 \pm 3,9)\%$, *Alistipes* – $(1,2 \pm 2,6)\%$, $(1,2 \pm 2,5)\%$ vs $(2,1 \pm 2,5)\%$, *Akkermansia* – $(0,4 \pm 2,1)\%$, $(0,6 \pm 1,3)\%$ vs $(2,1 \pm 6,5)\%$ и архей рода *Methanobrevibacter* – $(1,5 \pm 4,6)\%$, $(0,2 \pm 0,4)\%$ vs $(1,6 \pm 3,0)\%$, $p<0,05$. У пациентов в стадии обострения ЯК по сравнению с контрольной группой была повышена относительная представленность бактерий родов *Bacteroides* – $(19,5 \pm 18,7)\%$ vs $(7,8 \pm 10,8)\%$ и *Blautia* – $(3,1 \pm 6,9)\%$ vs $(2,5 \pm 2,0)\%$, УПБ родов *Escherichia* – $(3,1 \pm 6,2)\%$ vs $(1,5 \pm 5,2)\%$, *Streptococcus* – $(2,9 \pm 5,6)\%$ vs $(1,0 \pm 2,4)\%$, $p<0,05$. У пациентов в стадии ремиссии ЯК по сравнению с контрольной группой выявлено увеличение относительной представленности бактерий рода *Bacteroides* – $(18,4 \pm 14,8)\%$ vs $(7,8 \pm 10,8)\%$ и уменьшение представленности водород-утилизирующих бактерий рода *Blautia* – $(2,1 \pm 4,6)\%$ vs $(2,5 \pm 2,0)\%$, $p<0,001$.

У пациентов с БК изменения состава микробиоты кишечника характеризовались уменьшением в стадии обострения по сравнению с контрольной группой относительной представленности КЖК-продуцирующих бактерий родов *Ruminococcus* – $(2,70 \pm 3,60)\%$ vs $(8,80 \pm 8,61)\%$, *Faecalibacterium* – $(2,43 \pm 2,67)\%$ vs $(6,34 \pm 5,47)\%$, *Roseburia* – $(1,38 \pm 1,67)\%$ vs $(4,13 \pm 3,95)\%$, *Dorea* – $(1,34 \pm 1,93)\%$ vs $(2,54 \pm 2,50)\%$, *Coprococcus* – $(0,74 \pm 0,90)\%$ vs $(6,76 \pm 7,01)\%$ и архей рода *Methanobrevibacter* – $(0,97 \pm 3,15)\%$ vs $(1,61 \pm 2,98)\%$; в стадии ремиссии –

бактерий родов *Coprococcus* – $(0,86 \pm 1,08)\%$ vs $(6,76 \pm 7,01)\%$, *Methanobrevibacter* – $(0,00 \pm 0,00)\%$ vs $(1,61 \pm 2,98)\%$; увеличением в стадии обострения БК относительной представленности бактерий родов *Bacteroides* – $(34,44 \pm 32,04)\%$ vs $(7,82 \pm 10,75)\%$, *Escherichia* – $(8,46 \pm 10,67)\%$ vs $(1,49 \pm 5,23)\%$, *Akkermansia* – $(3,92 \pm 12,97)\%$ vs $(2,10 \pm 6,50)\%$, $p < 0,05$. У пациентов с БК в стадии обострения по сравнению со стадией ремиссии выявлено увеличение относительной представленности бактерий рода *Escherichia* – $(8,46 \pm 10,67)\%$ vs $(0,41 \pm 0,54)\%$, $p = 0,02$ и снижение представленности бактерий родов *Odoribacter* – $(0,39 \pm 0,85)\%$ vs $(1,78 \pm 1,19)\%$, $p = 0,02$ и *Bilophila* – $(0,08 \pm 0,15)\%$ vs $(0,5 \pm 0,28)\%$, $p = 0,01$.

Таким образом, для пациентов с ЯК и БК характерны однонаправленные изменения на уровне филумов и родов микроорганизмов: снижение относительной представленности бактерий филума *Firmicutes* (в т.ч. КЖК-продуцирующих родов бактерий), архей филума *Euryarchaeota* (в т.ч. водород-утилизирующих архей рода *Methanobrevibacter*) в стадии обострения и ремиссии заболеваний; увеличение относительной представленности бактерий филума *Proteobacteria* за счет бактерий рода *Escherichia* (у пациентов с ЯК в стадии обострения и БК в стадии обострения и ремиссии).

Для оценки метаболических характеристик представители микробиоты кишечника были сгруппированы по принципу функциональной активности (Ситкин С.И. и др., 2015). Наблюдалось снижение относительной представленности БПБ и водород-утилизирующих микроорганизмов у пациентов с ЯК – $(17,61 \pm 13,21)\%$, $(3,60 \pm 6,48)\%$ и БК – $(13,90 \pm 14,90)\%$, $(0,95 \pm 1,83)\%$ по сравнению с группой контроля – $(27,11 \pm 15,96)\%$, $(5,94 \pm 7,57)\%$, $p < 0,001$. С увеличением длительности заболевания относительная представленность БПБ уменьшалась у пациентов с ЯК ($r = -0,30$; $p = 0,008$) и БК ($r = -0,57$; $p = 0,017$). У пациентов с БК с увеличением длительности заболевания ($r = -0,69$; $p = 0,002$), частоты рецидивов ($r = -0,53$; $p = 0,029$) уменьшалась представленность водород-утилизирующих микроорганизмов; с увеличением длительности заболевания увеличивалась относительная представленность пропионат-продуцирующих бактерий ($r = 0,70$; $p = 0,002$).

При анализе наиболее представленных видов бактерий были обнаружены статистически значимые различия показателей между группой пациентов с ВЗК и группой контроля по 23 видам бактерий. Относительная представленность *F. prausnitzii*, одного из основных представителей группы БПБ, была снижена у пациентов с ВЗК по сравнению с контрольной группой – $(4,49 \pm 4,62)\%$ vs $(6,34 \pm 5,47)\%$, $p < 0,05$. У пациентов с ЯК и БК была снижена относительная представленность водород-утилизирующих архей вида *Methanobrevibacter smithii* (*M. smithii*) – $(0,90 \pm 3,33)\%$ и $(0,31 \pm 1,17)\%$ по сравнению с группой контроля – $(0,99 \pm 2,33)\%$, $p < 0,05$.

Обращает на себя внимание изменение представленности муколитических бактерий *Ruminococcus gnavus* (*R. gnavus*), *Ruminococcus torques* (*R. torques*) и *A. muciniphila* у пациентов с ВЗК. У пациентов с ЯК и БК по сравнению с контрольной группой были выявлены однонаправленные изменения: увеличение относительной представленности бактерий вида *R. gnavus* – $(1,44 \pm 6,28)\%$ и $(2,63 \pm 8,02)\%$ vs $(0,048 \pm 0,21)\%$, и снижение относительной представленности бактерий вида *R. torques* – $(1,09 \pm 2,17)\%$ и $(1,03 \pm 1,03)\%$ vs $(1,85 \pm 1,78)\%$, $p < 0,05$. В случае бактерий вида *A. muciniphila* были обнаружены разнонаправленные изменения: увеличение относительной представленности по сравнению с контрольной группой у пациентов с БК – $(3,11 \pm 11,34)\%$ vs $(2,06 \pm 6,50)\%$, и снижение у пациентов с ЯК – $(0,44 \pm 1,98)\%$ vs $(2,06 \pm 6,50)\%$, $p < 0,05$.

Учитывая важность метаболической функции микробиоты кишечника, проведена оценка представленности метаболических путей и содержания основных метаболитов. По сравнению с контрольной группой наблюдалось снижение относительной представленности гена БПБ бутирил-КоА: ацетат-СоА-трансферазы в группе пациентов с БК, $p = 0,047$; снижение абсолютного содержания уксусной кислоты у пациентов с ЯК – $2,29 [1,58; 4,44]$ мг/г и БК – $2,99 [1,57; 4,94]$ мг/г vs $4,78 [3,16; 8,13]$ мг/г и масляной кислоты у пациентов с ЯК – $0,72 [0,27; 1,24]$ мг/г и БК – $0,67 [0,21; 1,71]$ мг/г vs $1,26 [0,65; 2,95]$ мг/г, $p < 0,05$. Последнее может быть отражением уменьшения относительной представленности БПБ и одного из основных путей синтеза масляной кислоты у пациентов с ВЗК.

Установлена взаимосвязь клинических симптомов, лабораторных показателей и характера течения ЯК и БК с таксономическим составом микробиоты кишечника. У пациентов с ЯК выраженность абдоминальной боли положительно коррелировала с относительной представленностью *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) ($r=0,32$; $p=0,004$) и отрицательно – с относительной представленностью КЖК-продуцирующих бактерий *Alistipes unclassified* ($r=-0,31$; $p=0,005$), *A. muciniphila* ($r=-0,29$; $p=0,011$) и архей *M. smithii* ($r=-0,31$; $p=0,006$). Обнаружена умеренная положительная корреляционная связь частоты стула с относительной представленностью муцин-утилизирующих бактерий вида *R. gnavus* ($r=0,31$; $p=0,006$) и отрицательная корреляционная связь – с представленностью КЖК-продуцирующих бактерий *A. muciniphila* ($r=-0,39$; $p=0,0004$), *Lachnospiraceae bacterium 3 1 57FAA CT1* ($r=-0,36$; $p=0,001$), *Bilophila wadsworthia* ($r=-0,35$; $p=0,002$), *Roseburia hominis* ($r=-0,31$; $p=0,005$). Выявлена отрицательная корреляционная связь между наличием примеси крови в стуле и относительной представленностью БПБ бактерии *Eubacterium hallii* ($r=-0,30$; $p=0,009$). С увеличением протяженности поражения толстой кишки у пациентов с ЯК уменьшалась относительная представленность КЖК-продуцирующих бактерий родов *Akkermansia* ($r=-0,32$; $p=0,006$), вида *A. muciniphila* ($r=-0,34$; $p=0,002$), и *Holdemanella* ($r=-0,30$; $p=0,01$). Увеличение индекса Мейо у пациентов с ЯК сопровождалось уменьшением относительной представленности бактерий вида *A. muciniphila* ($r=-0,43$; $p=0,0001$), *Paraprevotella unclassified* ($r=-0,43$; $p=0,001$), *Paraprevotella clara* ($r=-0,42$; $p=0,0001$), *Bilophila unclassified* ($r=-0,3$; $p=0,008$) и увеличением относительной представленности УПБ *E. faecalis* ($r=0,33$; $p=0,003$), *S. infantis* ($r=0,32$; $p=0,005$) (рисунок 3).

Более высокий уровень кальпротектина характерен для пациентов с ЯК со сниженной относительной представленностью бактерий родов *Odoribacter* ($r=-0,44$; $p=0,0001$), *Oscillibacter* ($r=-0,39$; $p=0,001$), *Paraprevotella* ($r=-0,34$; $p=0,005$), видов *Paraprevotella clara* ($r=-0,39$, $p=0,0008$), *Paraprevotella xylaniphila* ($r=-0,39$; $p=0,0006$), *Paraprevotella unclassified* ($r=-0,36$; $p=0,002$), *Eubacterium siraeum* ($r=-0,34$; $p=0,004$).

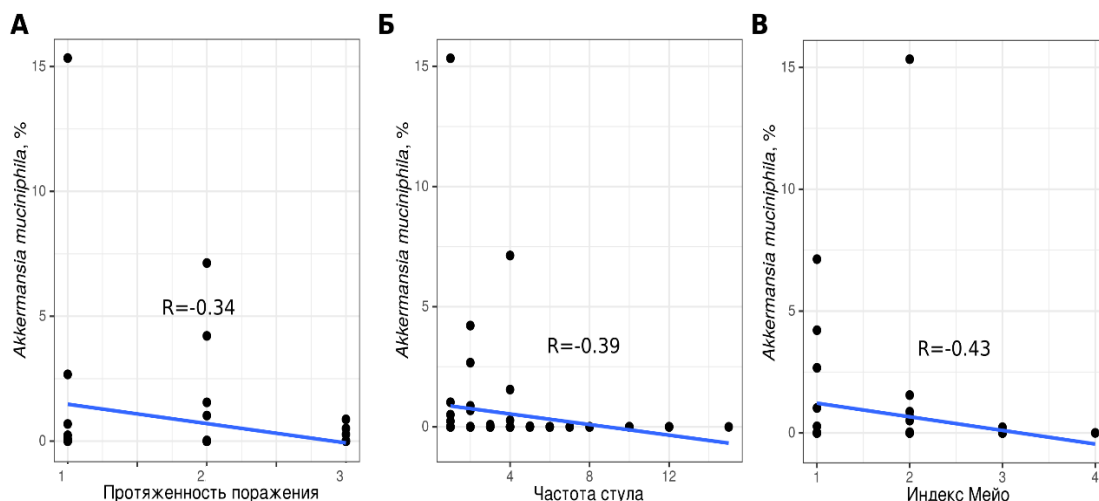


Рисунок 3 – Корреляционный анализ между показателями характера течения ЯК и относительной представленностью бактерий вида *A. muciniphila*

Примечания: А – протяженность поражения: 1 – проктит, 2 – левосторонний колит, 3 – тотальный колит; Б – частота стула за сутки; В – индекс Мейо: 1 – ремиссия, 2 – легкая атака, 3 – среднетяжелая атака, 4 – тяжелая атака.

У пациентов с БК выраженность абдоминальной боли отрицательно коррелировала с относительной представленностью бактерий видов *Alistipes senegalensis* ($r = -0,78$; $p = 0,0001$), *Lactobacillus plantarum* ($r = -0,73$; $p = 0,001$), *Bacteroides finegoldii* ($r = -0,64$; $p = 0,006$), *Lachnospiraceae bacterium 8 1 57FAA* ($r = -0,54$; $p = 0,024$), *Bacteroides thetaiotaomicron* ($r = -0,49$; $p = 0,044$), *Roseburia hominis* ($r = -0,49$; $p = 0,047$) и др. Выявлена положительная корреляционная связь между частотой стула и относительной представленностью бактерий видов *Ruminococcus lactaris* ($r = 0,61$; $p = 0,009$), *Lactobacillus salivarius* ($r = 0,51$; $p = 0,035$), *Peptostreptococcus stomatis* ($r = 0,50$; $p = 0,043$), *Succinatimonas hippie* ($r = 0,50$; $p = 0,042$), *Bacteroides faecis* ($r = 0,49$; $p = 0,047$). Установлена отрицательная корреляционная связь между выраженностью тенезмов у пациентов с БК и относительной представленностью КЖК-продуцирующих бактерий видов *Bifidobacterium longum* ($r = -0,55$; $p = 0,023$), *Bacteroides xylanisolvens* ($r = -0,49$; $p = 0,048$). Наличие примеси крови в стуле ассоциировано с более высокой относительной представленностью бактерий *Lactococcus raffinolactis* ($r = 0,57$; $p = 0,016$) и муцин-утилизирующих бактерий вида *R. torques* ($r = 0,57$; $p = 0,017$).

Повышенный уровень кальпротектина характерен для пациентов с БК с более высокой относительной представленностью бактерий рода *Roseburia* ($r=0,78$; $p=0,003$); более высокие показатели индекса Беста ассоциированы с повышением относительной представленности бактерий родов *Phascolarctobacterium* ($r=0,58$; $p=0,02$), *Succinatimonas* ($r=0,53$; $p=0,03$), *Catenibacterium* ($r=0,51$; $p=0,04$).

При сравнении фенотипических вариантов БК было обнаружено, что стриктурирующая БК по сравнению с нестриктурирующей, непенетрирующей характеризовалась более высокой относительной представленностью бактерий видов *Bacteroides massiliensis* – $(3,92 \pm 4,00)\%$ vs $(0,03 \pm 0,07)\%$, $p=0,019$ и *Alloprevotella tannerae* – $(1,35 \pm 1,92)\%$ vs $(0,00 \pm 0,00)\%$, $p=0,037$; пенетрирующая БК по сравнению с нестриктурирующей, непенетрирующей характеризовалась более высокой относительной представленностью бактерий вида *Megasphaera micronuciformis* – $(4,86 \pm 1,34)\%$ vs $(0,00 \pm 0,00)\%$, $p=0,0007$ и *E. faecium* – $(1,43 \pm 0,85)\%$ vs $(0,03 \pm 0,08)\%$, $p=0,019$. У пациентов с БК выявлена положительная корреляционная связь фенотипических вариантов заболевания с относительной представленностью УПБ и патогенных бактерий видов *Morganella morganii* ($r=0,75$; $p=0,0005$), *Enterococcus avium* ($r=0,75$; $p=0,0006$), *Megasphaera micronuciformis* ($r=0,75$; $p=0,0005$), *Klebsiella pneumoniae* ($r=0,59$; $p=0,01$), *Veillonella dispar* ($r=0,54$; $p=0,02$), *E. faecium* ($r=0,50$; $p=0,04$) и отрицательная – с относительной представленностью бактерий вида *F. prausnitzii* ($r=-0,51$; $p=0,035$).

В случае БК обнаружена более высокая частота рецидивирования в случае повышения относительной представленности УПБ: *E. coli* ($r=0,77$; $p=0,0003$), *E. faecium* ($r=0,52$; $p=0,034$), *Streptococcus parasanguinis* ($r=0,52$; $p=0,034$), *Streptococcus salivarius* ($r=0,52$; $p=0,032$), *Streptococcus vestibularis* ($r=0,52$; $p=0,034$) и снижения представленности КЖК-продуцирующих бактерий видов *Eubacterium hallii* ($r=-0,81$; $p=0,00008$), *Eubacterium eligens* ($r=-0,73$; $p=0,001$), *Alistipes finegoldii* ($r=-0,56$; $p=0,019$), *F. prausnitzii* ($r=-0,56$; $p=0,021$), *Rumiococcus bromii* ($r=-0,55$; $p=0,023$).

С учетом выявленных изменений состава микробиоты толстой кишки была проведена качественная оценка состояния микробиоты тонкой кишки с помощью

неинвазивного ВДТ. У 23 из 60 (38,3%) обследованных пациентов с ВЗК (15 из 42 (35,7%) пациентов с ЯК, 8 из 18 (44,4%) пациентов с БК, ОШ=0,694, 95%ДИ: 0,226-2,136, $p=0,5245$) были выявлены признаки избыточного роста бактерий в тонкой кишке. Пациентам с выявленным синдромом избыточного бактериального роста (СИБР) в тонкой кишке был проведен курс лечения рифаксимином- α (400 мг 2 раза в день, внутрь в течение 7 дней), через 4 недели после завершения которого повторно проводили ВДТ и оценивали выраженность вздутия, абдоминальной боли, частоту стула. Лечение СИБР рифаксимином- α приводило к эрадикации избыточного роста бактерий в тонкой кишке по данным ВДТ у 60% пациентов с ЯК и 62,5% с БК; у пациентов с ЯК – к уменьшению выраженности вздутия живота с 4 до 1 балла (по визуальной аналоговой шкале (ВАШ), $p=0,001$), абдоминальной боли с 3 до 1 балла (по ВАШ, $p=0,001$), частоты стула ($p=0,025$); у пациентов с БК – уменьшению выраженности вздутия с 6 до 2 баллов (по ВАШ, $p=0,008$), интенсивности боли в животе с 4 до 2 баллов (по ВАШ, $p=0,008$).

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с ЯК и БК по сравнению с контрольной группой обнаружены однонаправленные изменения таксономического состава микробиоты кишечника на уровне филумов бактерий и архей: увеличение относительной представленности бактерий филума *Proteobacteria* на фоне снижения относительной представленности бактерий филума *Firmicutes* и архей филума *Euryarchaeota*, снижение индекса альфа-разнообразия.

2. У пациентов с ЯК и БК по сравнению с контрольной группой наблюдается дисбаланс таксономического состава микробиоты кишечника на уровне видов:

– однонаправленные изменения: уменьшение представленности КЖК-продуцирующих бактерий и архей вида *M. smithii* как в стадии обострения, так и в стадии ремиссии ЯК и БК; увеличение относительной представленности бактерий вида *E. coli* в стадии обострения ЯК и БК;

– разнонаправленные изменения: снижение относительной представленности бактерий вида *A. muciniphila* у пациентов с ЯК и увеличение ее относительной представленности в случае БК.

3. У пациентов с ЯК и БК по сравнению с контрольной группой выявлено снижение относительной представленности функциональных групп микроорганизмов (бутират-продуцирующей, водород-утилизирующей групп), уменьшение абсолютного содержания «противовоспалительных» КЖК (уксусной, масляной); в группе пациентов с БК – снижение относительной представленности гена бутират-продуцирующих бактерий бутирил-КоА: ацетат-СоА-трансферазы.

4. У пациентов с ЯК обнаружена связь между индексом Мейо ($r=-0,43$; $p=0,0001$), частотой стула ($r=-0,39$; $p=0,0003$), увеличением протяженности поражения ($r=-0,34$; $p=0,002$) и относительной представленностью КЖК-продуцирующих/муцин-утилизирующих бактерий вида *A. muciniphila*. Бóльшая тяжесть атаки ЯК, оцениваемая по индексу Мейо, характеризуется увеличением относительной представленности условно-патогенных бактерий видов *E. faecalis* ($r=0,33$; $p=0,003$), *S. infantis* ($r=0,32$; $p=0,005$).

5. У пациентов с БК выявлена связь между прогрессированием формы заболевания ($r=-0,51$; $p=0,035$), увеличением частоты рецидивов ($r=-0,56$; $p=0,021$) и снижением относительной представленности бутират-продуцирующих бактерий вида *F. prausnitzii*; увеличение частоты рецидивов сопровождается увеличением относительной представленности условно-патогенных бактерий видов *E. coli* ($r=0,77$; $p=0,0003$), *E. faecium* ($r=0,52$; $p=0,034$), *Streptococcus parasanguinis* ($r=0,52$; $p=0,034$), *Streptococcus salivarius* ($r=0,52$; $p=0,032$), *Streptococcus vestibularis* ($r=0,52$; $p=0,034$). Увеличение примеси крови в стуле сопровождается повышением относительной представленности муцин-утилизирующих бактерий вида *R. torques* ($r=0,57$; $p=0,017$).

6. Распространенность СИБР составила 35,7% у пациентов с ЯК и 44,4% у пациентов с БК (ОШ=0,694, 95% ДИ: 0,226-2,136, $p=0,5245$). Лечение рифаксимином-α приводило к эрадикации избыточного роста бактерий в тонкой кишке по данным ВДТ у 60% пациентов с ЯК и 62,5% с БК, уменьшению

выраженности клинических симптомов вздутия, боли в животе, частоты стула ($p < 0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью персонифицированного подхода для коррекции микробиоценоза кишечника пациентам с ЯК и БК рекомендуется определение состава микробиоты кишечника и при выявлении снижения представленности бутират-продуцирующих бактерий и уровня бутирата включение в схемы лечения препаратов на основе масляной кислоты и донаторов пищевых волокон.

2. Пациентам с ВЗК и наличием клинических проявлений СИБР рекомендуется проведение ВДТ и, в случае обнаружения избыточного бактериального роста бактерий, проведение эрадикации рифаксимин-α.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Перспективным является проведение исследований по дальнейшему изучению метаболического потенциала кишечной микробиоты у пациентов с ВЗК, используя подходы функциональной метагеномики, метатранскриптомики и метапротеомики.

2. Дальнейшие исследования могут быть направлены на изучение роли и влияния микробиоты кишечника на эффективность лечения пациентов с ВЗК и разработку инновационных пробиотических препаратов, содержащих в составе кишечные комменсальные бактерии определенных видов, в частности, *A. muciniphila* и *F. prausnitzii*.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Синдром избыточного бактериального роста у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника / Н. А. Данилова, Р. А. Абдулхаков, С. Р. Абдулхаков [и др.] // Практическая медицина. – 2015. – № 6 (91). – С. 122-126.

2. The prevalence of small intestinal bacterial overgrowth in patients with inflammatory bowel diseases / N. Danilova, R. Abdulkhakov, S. Abdulkhakov, A. Odintsova // Abstracts of the VII Latvian Gastroenterology Congress with International participation. – Riga (Latvia), 2015. – P. 34.
3. Внедрение нового неинвазивного метода для верификации синдрома избыточного бактериального роста у больных с воспалительными заболеваниями кишечника / Н. А. Данилова, Р. А. Абдулхаков, А. Х. Одинцова, С. Р. Абдулхаков // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2015. – Т. XXV, № 5. – С. 42.
4. **Изменения состава микробиоты кишечника у пациентов с язвенным колитом / Н. А. Данилова, С. Р. Абдулхаков, Т. В. Григорьева [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – № 6 (142). – С. 54-60.**
5. **Роль микробиоты в формировании аутоиммунного воспаления при воспалительных заболеваниях кишечника / Н. А. Данилова, А. Р. Валеева, С. Р. Абдулхаков [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – № 7 (143). – С. 121-125.**
6. Abundance of key intestinal dysbiosis markers in gut metagenomes of patients with ulcerative colitis and Crohn's disease / N. A. Danilova, M. Markelova, E. Boulygina [et al.] // Helicobacter. – 2017. – Vol. 22, № S1. – P. 124.
7. Alterations of intestinal microbiota in ulcerative colitis / N. Danilova, S. Abdulkhakov, T. Grigoryeva [et al.] // Journal of Crohn's and Colitis. – 2017. – Vol. 11, № S1. – P. S486.
8. Escherichia coli as one of the possible causes of ulcerative colitis and Crohn's disease / N. Danilova, M. Markelova, E. Boulygina [et al.] // Abstracts of the Falk Symposium 209 IBD 2017 – Therapeutic and Biological Barriers». – Berlin, 2017. – P. 25.
9. Особенности состава кишечной микробиоты у пациентов с язвенным колитом / Н. А. Данилова, С. Р. Абдулхаков, Т. В. Григорьева [и др.] // Российский

журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2017. – Т. 27, № 5. – С. 36.

10. Steroid-resistance and steroid-dependence in inflammatory bowel disease can be linked with gut microbiota composition changes / N. Danilova, R. Abdulkhakov, S. Abdulkhakov [et al.] // *Gastroenterology*. – 2018. – Vol. 154, № 1S. – P. S56-S57.

11. Comparison of intestinal microbiota composition in patients with inflammatory bowel diseases depending on the place of residence (urban or rural) / M. Markelova, N. Danilova, S. Abdulkhakov [et al.] // *United European Gastroenterology Journal*. – 2018. – Vol. 6, № S8. – P. A133.

12. Short-chain fatty acids as a marker of intestinal dysbiosis in patients with inflammatory bowel diseases / N. Danilova, S. Abdulkhakov, T. Grigoryeva [et al.] // *Journal of Crohn's and Colitis*. – 2018. – Vol. 12, № S1. – P. S552.

13. The role of gut microbiota in the formation of steroid resistance and dependence in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease / N. Danilova, S. Abdulkhakov, T. Grigoryeva [et al.] // *Journal of Crohn's and Colitis*. – 2018. – Vol. 12, № S1. – P. S555-S556.

14. Intestinal microbiota changes in urban and rural patients with inflammatory bowel diseases / N. Danilova, M. Markelova, S. Abdulkhakov [et al.] // *Abstracts of the Falk Symposium 213 Tailored Therapies for IBD: A Look into the Future*. – Milan, 2018. – P. 25.

15. **Маркеры дисбиоза у пациентов с язвенным колитом и болезнью Крона / Н. А. Данилова, С. Р. Абдулхаков, Т. В. Григорьева [и др.] // *Терапевтический архив*. – 2019. – № 4. – С. 13-20.**

16. Fecal short-chain fatty acids in inflammatory bowel diseases patients / N. Danilova, S. Abdulkhakov, T. Grigoryeva [et al.] // *United European Gastroenterology Journal*. – 2019. – Vol. 7, № S8. – P. 895.

17. Next-generation sequencing-based evidence for a decrease of gut microbiota butyrate production capability in Crohn's disease / M. Markelova, N. Danilova, E. Boulygina [et al.] // *United European Gastroenterology Journal*. – 2019. – Vol. 7, № S8. – P. 592.

18. Features of gut dysbiosis in ulcerative colitis patients / N. Danilova, M. Markelova, S. Abdulkhakov [et al.] // Abstracts of the Falk Symposium 215 From Diagnosis to Therapy. – St. Petersburg, 2019. – P. 15.
19. **Diversity and Adaptations of Escherichia coli Strains: Exploring the Intestinal Community in Crohn's Disease Patients and Healthy Individuals** / M. Siniagina, M. Markelova, N. Danilova [et al.] // **Microorganisms**. – 2021. – Vol. 9, № 6. – P. 1299. – URL: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061299>
20. **Inflammatory Bowel Disease-Associated Changes in the Gut : Focus on Kazan Patients** / G. Lo Sasso, L. Khachatryan, N.A. Danilova [et al.] // **Inflammatory bowel diseases**. – 2021. – Vol. 27, № 3. – P. 418-433.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БК – болезнь Крона

БПБ – бутират-продуцирующие бактерии

ВАШ – визуальная аналоговая шкала

ВДТ – водородный дыхательный тест

ВЗК – воспалительные заболевания кишечника

ДИ – доверительный интервал

КЖК – короткоцепочечные жирные кислоты

ОШ – отношение шансов

СИБР – синдром избыточного бактериального роста

УПБ – условно-патогенные бактерии

ЯК – язвенный колит

vs – versus